

РОЛЬ ЭНДОТЕЛИОТРОПНЫХ СВОЙСТВ В МЕХАНИЗМАХ ЦЕРЕБРОПРОТЕКЦИИ ПИРАЦЕТАМА И ПРАМИРАЦЕТАМА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ДИАБЕТЕ

Жилюк В.И., Мамчур В.И.

Днепропетровская государственная медицинская академия, Украина

Сахарный диабет (СД) – группа метаболических заболеваний, которые характеризуются гипергликемией, возникающей вследствие дефектов секреции инсулина, действия инсулина или обоих этих факторов. Основными причинами летальности при СД являются сердечно-сосудистые осложнения, обусловленные гипергликемией, запускающей ряд патологических механизмов – эндотелиальную дисфункцию, оксидативный стресс, нарушения реологических свойств крови и гемостаза.

Развитие диффузной генерализованной диабетической эндотелиальной дисфункции (ЭД) характеризуется отсутствием клинической симптоматики, обратимостью ранних этапов изменений эндотелия и имеет важное значение для предупреждения тяжелых кардиоваскулярных осложнений [1]. Характерно, что ЭД наряду с инсулиновой резистентностью наблюдается уже на ранних этапах формирования СД 2 типа, течение которого происходит и без существенной гипергликемии [2].

Нарушения эндотелий-зависимой вазодилатации могут напрямую быть связанными со снижением синтеза эндотелиального NO (хроническая гипергликемия приводит к снижению активности NO-синтазы) и/или повышением образования реактивных разновидностей кислорода, в частности супероксида. При СД, окислительный стресс играет ключевую роль в патогенезе сосудистых осложнений, при этом ЭД считается ранним этапом этих осложнений [1].

Сегодня доказана связь между механизмами повреждения при хронической, острой церебральной ишемии и ЭД [3]. Также установлена и роль ЭД в развитии диабетической энцефалопатии [4].

Одним из направлений лечения цереброваскулярной патологии является

целенаправленная медикаментозная терапия, которая предполагает назначение препаратов, улучшающих кровообращение и состояние метаболических процессов в мозговой ткани – ноотропов. В литературе встречаются сведения о положительном влиянии ноотропных средств на ЭД при ишемических состояниях головного мозга, однако остается не выясненным действие этих препаратов и его механизмы, на функции эндотелия при сахарном диабете.

Целью работы было определение влияния ноотропных средств, производных пирролидона – пирацетама и прамирацетама на состояние эндотелиальной дисфункции в сосудах головного мозга крыс с аллоксановым диабетом.

Материал и методы исследования. Исследования проведены на 40 белых крысах линии Вистар, мужского пола, массой 250 – 300 г, которые содержались на стандартном рационе вивария и разделенных на 4 группы: I – нитактные крысы, $n=10$; II – животные с аллоксановым диабетом (АД, контроль), $n=10$; III – АД + пирацетам в дозе 500 мг/кг, $n=10$; IV – АД + прамирацетам в дозе 300 мг/кг, $n=10$. Экспериментальный диабет моделировали с помощью диабетогенного вещества – аллоксана моногидрата, вводимого однократно, подкожно в дозе 150 мг/кг, после предварительной 24-часовой депривации пищи (при сохраненном доступе к воде), в виде 5% водного раствора [5].

Уровень глюкозы крови определяли на 11 сутки после введения аллоксана с помощью глюкометра Optium Omega (Abbot Diabetes Care Inc., США). Для дальнейших исследований использованы только животные с повышенным уровнем глюкозы (>11 ммоль/л).

Состояние эндотелия оценивали по уровню нитротирозина и плотности eNOS-положительных клеток. Содержание нитротирозина (НТЗ) определяли в гомогенизированных в жидком азоте фрагментах мозга (область среднемозговой артерии) методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием стандартного тест-набора “Nitrotyrosine ELISA Kit” (“HvCult biotechnology”) в соответствии с приложенной инструкцией.

Интенсивность экспрессии эндотелиальной (eNOS) NO-сингазы определяли иммуногистохимическим методом с использованием системы биопероксидазы [6]. 5-микронные срезы обрабатывали первичными

поликлональными антителами кролей против eNOS "KOH RN5" ("Dako"). При этом, в проекции среза находились зона сомато-сенсорной коры больших полушарий, гиппокампа, сосудистой оболочки мозга, сосудистого сплетения желудочков мозга, веток средне-мозговой и глазной артерий.

Препараты вводили внутривенно в указанных выше дозах 1 раз в сутки на протяжении 20 дней, начиная с 11 дня после введения аллоксана и установления уровня гипергликемии. Животным I та II групп, в соответствующем объеме внутривенно, вводили дистиллированную воду. На 30 сутки животных выводили из эксперимента путем декапитации.

Все исследования проведены при комнатном освещении в часовом промежутке времени от 12 до 17 часов.

Достоверность разницы средних арифметических (\bar{x}) определяли с помощью непараметрического - *U*-критерия Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение. Полученные нами результаты исследований свидетельствуют о развитии ЭД в условиях аллоксанового диабета у крыс (таб.), которая характеризовалась снижением на 68% ($p < 0,01$) на единицу площади среза плотности eNOS-положительных эндотелиоцитов, при достоверном в 3,3 раза ($p < 0,01$) росте уровня НТЗ, в сопоставлении с интактными животными.

Таблица 1. -Влияние пирацетама и прамирацетама на содержание нитротирозина, а также экспрессию eNO-синтазы в сосудах головного мозга аллоксан-диабетных крыс

Группа животных	Нитротирозин, нмоль/г белка	Плотность eNOS-положительных эндотелиоцитов
Интактные (n=10)	10,96±1,0	84,8±9,7
Аллоксановый диабет (n=10)	55,13±5,54*	27,1±2,61*
Пирацетам (n= 10)	47,76±3,96*	33,7±5,0*
Прамирацетам (n- 10)	19,18±1,24*	67,6±9,48*

Примечание: * - $p < 0,01$ по отношению к группе интактных животных.

Курсовое применение ноотропных средств, в разной степени выраженности, способствовало восстановлению экспрессии eNOS и снижению уровня нитротирозина в сосудистой ткани при сахарном диабете (таб.).

Так, введение крысам с диабетической патологией парацетама, сопровождалось повышением на 24,5% ($p<0,01$) экспрессии эндотелиального фермента, ответственного за синтез оксида азота и способствовало снижению на 13,4% ($p<0,01$) концентрации НТЗ. Более выраженные изменения были получены в группе животных, получавших прамирацетам. Так при применении данного средства отмечалось более значимое, по сравнению с III группой, уменьшение на 57,7% ($p<0,01$) содержания НТЗ. При этом, в значительной степени отмечалось восстановление экспрессии eNOS, которая в сопоставлении с группой контроля, возрастала в 2,5 раза ($p<0,01$).

Следовательно, курсовое, на протяжении 20 дней, введение ноотропных средств, животным с экспериментальным эквивалентом СД, определило их положительное влияние на функциональное состояние эндотелия. Исследуемые средства содействуют повышению экспрессии эндотелиальной NO-синтазы, а также уменьшают содержание в сосудистой стенке факторов, способствующих развитию оксидативного и нитрозирующего стресса.

Нитротирозин рассматривается не только как маркер пероксинитрита (образуется в результате взаимодействия супероксида с NO), но и как общий индекс реактивных разновидностей азота. Сегодня самостоятельное неблагоприятное влияние НТЗ на сердечно-сосудистую систему, а также и его потенциальное эндотелиотоксическое действие выводится на передний план.

Заключение. Таким образом, проведенные исследования позволяют раскрыть механизмы положительного влияния изученных ноотропных средств на функциональное состояние сосудистого эндотелия. Снижение явлений эндотелиальной дисфункции в сосудах головного мозга при сахарном диабете, происходящее под влиянием парацетама и, большей степени прамирацетама, предупреждает или же замедляет развитие ангиопатий и тем самым, улучшает мозговое кровообращение. Полученные результаты свидетельствуют о возможной роли эндотелиотропных свойств, в механизмах церебропротекции исследуемых лекарственных средств.

Литература:

1. Potenza M.A., Gagliardi S., Nacci C. [et all.] Endothelial dysfunction in diabetes: from mechanisms to therapeutic targets // *Curr.Med. Chem.* – 2009. – Vol. 16, № 1. - P. 94-

2. H.A.R. Hadi, J.A. Suwaidi Hadi H.A.R. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus/ // Vascular Health and Risk Management. – 2007. – Vol. 3, №6. – P. 853 -876.
3. Рациональная нейропротекция. / И.Ф. Беленичев, В.И. Черний, Ю.М. Колесник и др. – Донецк: Издатель Заславский А.Ю., 2009. – 262 с.
4. Пашиковская Н.В. Особенности показателей эндотелиальной дисфункции у больных на диабетическую энцефалопатию в зависимости от стадии и типа основного заболевания // Вестник СумГУ. Серия Медицина – 2008. – № 1. – С. 97 – 103.
5. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes // Diabetologia. – 2008. - № 51. – С. 216–226.
6. Ignarro L. G. Endothellium-derived oxide: actions and properties // FASEB. – 1989. - №3. – P.31-36.

ВЛИЯНИЕ ФЕНИБУТА НА ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА ПРИ КРАТКОВРЕМЕННОЙ ИШЕМИИ КИШКИ

Каравай Т.В., Азев О.А., Альфер И.Ю., Чумак А.Г.

Институт физиологии НАН Беларусь, г. Минск, Беларусь

Окклюзия мезентериальных сосудов разной продолжительности приводит к тяжелым расстройствам вегетативных функций. Клинические наблюдения позволили выявить, что ишемия тонкой кишки сопровождается значительными изменениями центральной гемодинамики и сильными висцеральными болями. В стадии кишечного инфаркта появляются эрозии в слизистой оболочке желудка, наблюдаются интоксикация, запоры, диарея, возникают приступы тошноты, рвоты и т. д. Вследствие висцерально-ишемических явлений смертность может достигать 70-100%.

Как известно, возникновение окклюзионной ишемии тканей тонкого кишечника обычно вызывается сужением или закупоркой мезентериальных артерий. По литературным данным она является одной из распространенных причин заболеваемости и смертности, сопровождается рефлекторными изменениями активности сердечно-сосудистой системы, в виде тахикардии и прессорной реакции у животных [1].